

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ИНГИБИТОРОВ ТИРОЗИНОКИНАЗ И ТРАДИЦИОННЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Саватеева-Любимова Т.Н., Сивак К.В., Александров А.Г., Стосман К.И., Казакова С.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа им. А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, Санкт-Петербург

Резюме. Поражения печени, нефротоксичность, угнетение кроветворения являются наиболее тяжелыми осложнениями традиционной противоопухолевой терапии, что обусловило необходимость разработки препаратов, селективно воздействующих на конкретные молекулярные мишени в злокачественных клетках. Ранняя идентификация биомаркеров различных видов токсичности при применении инновационных противоопухолевых средств может способствовать своевременному выявлению и коррекции побочных эффектов. В ходе экспериментального исследования изучен токсический профиль иматиниба и гефитиниба в сравнении с циклофосфамидом и метотрексатом при внутрижелудочном введении в течение 14 дней в дозах, эквивалентных для взрослого человека одной терапевтической и превышающей ее в 10 раз, с учетом коэффициентов переноса доз на грызунов. Полученные результаты продемонстрировали, что иматиниб вызвал дозозависимое повышение активности ферментов цитолиза гепатоцитов, лимфопению и тромбоцитопению, в отличие от гефитиниба, обусловившего невыраженные нарушения со стороны печени и системы крови только при применении в дозе, превышающей терапевтическую в 10 раз. При применении циклофосфамида наблюдался наиболее широкий спектр побочных эффектов, включающий показатели гепато-, нефро- и гематотоксичности. Профиль токсичности метотрексата включал показатели гепато- и гематотоксичности.

Ключевые слова: иматиниб; гефитиниб; циклофосфамид; метотрексат; токсичность; крысы

**COMPARATIVE STUDY OF THE TOXIC PROFILE OF TYROSINE KINASE
INHIBITORS AND TRADITIONAL ANTICANCER DRUGS IN AN EXPERIMENT**

Savateeva-Lubimova T.N., Sivak K.V., Aleksandrov A.G., Stosman K.I.,
Kazakova S.B.

*Federal State Budgetary Institution «Smorodintsev Research institute of influenza» Ministry of
Health of the Russian Federation, 197376, St. Petersburg*

Summary. Liver injury, nephrotoxicity, and hematopoiesis inhibition are the most severe complications of traditional antitumor therapy, which necessitated the development of drugs that selectively affect specific molecular targets in malignant cells. Early identification of various types toxicity biomarkers during innovative antitumor agents usage can contribute to the timely detection and correction of side effects. In the experiment, the toxic profile of imatinib and gefitinib was studied in comparison with cyclophosphamide and methotrexate when administered intragastrically for 14 days at doses equivalent to one therapeutic dose for an adult and exceeding it by 10 times, taking into account the coefficients of dose transfer to rodents. The obtained results demonstrated that imatinib caused a dose-dependent increase in the activity of hepatocyte cytolysis enzymes, lymphopenia and thrombocytopenia, unlike gefitinib, which caused insignificant disorders of the liver and blood system only when used at a dose exceeding the therapeutic dose by 10 times. The widest range of side effects was observed, including indicators of hepatotoxicity, nephrotoxicity and hepatotoxicity, when using cyclophosphamide. The toxicity profile of methotrexate included indicators of hepatotoxicity and hematotoxicity.

Key words: imatinib; gefitinib; cyclophosphamide; methotrexate; toxicity; rats

Введение. Химиотерапия является одним из наиболее распространённых видов лечения ряда онкологических заболеваний. К наиболее широко применяемым противоопухолевым препаратам относятся: алкилирующие агенты, к которым чувствительны солидные опухоли, множественная миелома и др.; антиметаболиты (аналоги фолиевой кислоты, пурина и пиримидина), наиболее часто применяемые в случае рака молочной железы и ряда солидных опухолей; антибиотики с широким спектром действия; лекарства растительного происхождения [1 – 5]. Поскольку механизм действия препаратов из данных фармакологических групп основан на повреждении ДНК или блокировании процессов транскрипции и митоза в опухолевых клетках, они обладают токсичностью и в отношении нормальных клеток. Последнее приводит к развитию таких нежелательных

явлений, как анемия, нейтропения, гепатотоксичность, нефротоксичность, сердечно-сосудистая токсичность, что существенно влияет на эффективность терапии [6 – 8].

Наряду с традиционными противоопухолевыми средствами в настоящее время существуют препараты, способные блокировать рост опухоли путем взаимодействия с конкретной молекулярной мишенью, так называемые «таргетные»: малые синтетические молекулы и биологические, преимущественно, моноклональные антитела [9 – 13]. К малым синтетическим молекулам относятся селективные ингибиторы тирозинкиназ и цитоплазматические ингибиторы серин/треонинкиназ [14]. Они способны воздействовать только на измененные раковые клетки и обладают незначительными побочными эффектами [10].

Цель. Изучение токсических профилей ингибитора BCR-ABL-тирозинкиназы иматиниба и ингибитора тирозинкиназы EGFR гефитиниба в сравнении с алкилирующим агентом циклофосфамидом и антиметаболитом метотрексатом в экспериментах на крысах.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 100 белых беспородных крысах самцах с массой тела 200 – 225 г, полученных из НИЦ «Курчатовский институт» - «ПЛЖ» Рапполово. Животные содержались в отдельном помещении вивария ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России в условиях фотопериода: 12 часов ночь – 12 часов день при искусственном освещении лампами дневного света, температуре 20 – 22⁰ С и влажности 40–60%. Исследование проведено в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. Протокол был одобрен независимой биоэтической комиссией ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» (№23 от 21.07.2020 г).

Препараты вводили внутривенно (в/в) ежедневно в течение 14 дней в дозах, равных для взрослого человека одной терапевтической (1 ТД) и превышающей ее в 10 раз (10 ТД), с учетом коэффициентов переноса доз на грызунов [15].

В качестве объектов исследования были выбраны следующие препараты: Эндоксан (циклофосфамид, BaxterOncology, GmbH, Германия); Метотрексат Эбеве (метотрексат, Sandos, Австрия); Гливек[®], капсулы 100 мг (иматиниб, Novartis Pharma Stein, Швейцария); Иресса[®] (гефитиниб, Astrazeneka UK, Limited, Великобритания).

Было сформировано 10 групп животных по 10 особей в каждой:

1. Группа №1 (контроль №1): 1% раствор крахмала в объеме, эквивалентном максимальной дозе, в/ж;
2. Группа №2: циклофосфамид, 17,7 мг/кг;
3. Группа №3: циклофосфамид, 177 мг/кг, в/ж

. Группа №4: метотрексат, 2,5 мг/кг, в/ж

Группа №5: метотрексат, 25 мг/кг, в/ж

6. Группа №6 (контроль №2): 1% раствор крахмала в объеме, эквивалентном максимальной дозе, в/ж;

7. Группа №7: иматиниб, 67 мг/кг, в/ж;

8. Группа №8: иматиниб, 670 мг/кг, в/ж;

9. Группа №9: гефитиниб, 21 мг/кг, в/ж;

10. Группа №10: гефитиниб, 210 мг/кг, в/ж.

Растворы таблетированных форм препаратов готовили *ex tempore* на воде очищенной.

По окончании введения у животных из всех групп проводили забор крови для гематологического и биохимического исследования. Гематологический анализ проводили по следующим параметрам: количество эритроцитов, концентрация гемоглобина, количество лейкоцитов, лейкоцитарная формула, количество тромбоцитов на автоматическом гематологическом анализаторе Abacus Junior Vet (Diatron, Венгрия). В сыворотке крови определяли активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), активность аспаратаминотрансферазы (АСТ), активность щелочной фосфатазы (ЩФ), содержание общего билирубина, мочевины, креатинина с помощью готовых наборов для клинической биохимии на автоматическом биохимическом анализаторе KeyLab Automatic Analyzer (BPC+BioSed, Италия).

Статистический анализ полученных данных осуществляли при помощи программы Graphpad Prism (GraphPad Software, Inc., версия 8). Проверку на нормальность распределения проводили с помощью теста Шапиро-Уилка. Межгрупповое сравнение проводили с использованием однофакторной ANOVA и последующим тестом Тьюки (при нормальном распределении) и теста Краскела-Уолиса с последующим тестом Данна (при ненормальном распределении). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные в таблицах представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение ($\text{Mean} \pm \text{SD}$).

Результаты. Введение циклофосфида (таблица 1) в обеих дозах вызвало дозозависимое увеличение активности печеночных ферментов. Содержание АЛТ возросло в 2,97 раз (1 ТД) и в 3,89 раз (10 ТД); АСТ – в 1,99 раз (1 ТД) и в 4,59 раз (10 ТД) и ЩФ – в 1,4 раза (10 ТД) относительно контроля. Также у животных, получавших препарат в дозе 10 ТД, было выявлено повышение содержания билирубина и мочевины в 2 раза и в 2,38 раз, соответственно. Снижение уровня креатинина у животных из этой же группы на 78%, возможно, было связано со значительной потерей массы тела к концу введения.

Со стороны системы белой крови было выявлено снижение уровня лейкоцитов на 25% (1 ТД) и на 31% (10 ТД); относительного уровня лимфоцитов и гранулоцитов – на 35% и 47%, соответственно (10 ТД). Также имело место дозозависимое снижение содержания эритроцитов на 25% (1 ТД) и 41% (10 ТД) и уровня гемоглобина – на 15% (1 ТД) и 22% (10 ТД). Наблюдавшаяся тромбоцитопения не носила значимого дозозависимого характера, а максимальное снижение относительного содержания тромбоцитов составляло 48% (10 ТД) относительно контроля.

Метотрексат также обусловил развитие гепато- и гематотоксического действия (таблица 2). Так, препарат в дозе 1 ТД вызвал значимое и дозозависимое повышение активности АЛТ в 1,38 раз (1 ТД) и в 2,59 раз (10 ТД), АСТ – в 1,27 раз (1 ТД) и в 1,79 раз (10 ТД). Значимое увеличение активности ЩФ в 3 раза имело место у животных, получавших препарат в дозе 10 ТД, что превалировало над значением данного показателя, характеризующего развитие холестаза, в случае применения циклофосфида в эквивалентной дозе. Увеличение содержания билирубина также было отмечено только при введении 10 ТД. Наряду с вышеописанным необходимо отметить, что в профиле токсического действия метотрексата не выявлены изменения в содержании креатинина и мочевины. Гематотоксическое действие метотрексата, в целом, носило аналогичный циклофосфамиду характер. У животных развивалась лейкопения, лимфопения и гранулоцитопения, носившие значимый характер при введении препарата в дозе 10 ТД, а также анемия и тромбоцитопения.

Таблица 1.

Токсический профиль препарата циклофосфамид

Показатели (Mean±SD)	Экспериментальные группы		
	Группа № 1 (контроль № 1) n=10	Циклофосфамид, 1 ТД n=10	Циклофосфамид, 10 ТД n=10
АЛТ, Е/л	25,0±4,2	74,3±8,8*	97,3±17,0*
АСТ, Е/л	84,3±10,2	167,8±22,7*	386,7±24,3*^
ЩФ, Е/л	276±32	322±23*	387±24*^
Билирубин, мкмоль/л	4,81±0,41	5,80±0,54	9,63±0,75*^
Мочевина, мкмоль/л	5,22±1,24	6,64±1,24	12,44±1,32*^
Креатинин, мкмоль/л	74,8±6,0	86,1±7,3	16,8±7,3*^

Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$11,32 \pm 0,61$	$8,51 \pm 0,48^*$	$7,84 \pm 0,22^*$
Лимфоциты, %	$66,5 \pm 5,5$	$53,4 \pm 4,9$	$43,4 \pm 4,4^{*\wedge}$
Гранулоциты, %	$29,5 \pm 3,3$	$18,5 \pm 1,6^*$	$15,5 \pm 1,5^*$
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	$7,18 \pm 0,27$	$5,42 \pm 0,43^*$	$4,25 \pm 0,19^{*\wedge}$
Гемоглобин, г/л	142 ± 3	$121 \pm 4^*$	$111 \pm 4^{*\wedge}$
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	787 ± 99	$504 \pm 44^*$	$411 \pm 16^*$

* – $p < 0,05$ по отношению к группе №1 (контроль №1); $\wedge$ – $p < 0,05$ – различия, связанные с уровнем дозирования

Таблица 2.

Токсический профиль препарата метотрексат

Показатели (Mean $\pm$ SD)	Экспериментальные группы		
	Группа № 1 (контроль № 1) n=10	Метотрексат, 1 ТД n=10	Метотрексат, 10 ТД n=10
АЛТ, Е/л	$25,0 \pm 4,2$	$34,4 \pm 4,9$	$64,7 \pm 4,3^{*\wedge}$
АСТ, Е/л	$84,3 \pm 10,2$	$106,7 \pm 8,1$	$150,3 \pm 10,8^{*\wedge}$
ЩФ, Е/л	276 ± 32	322 ± 23	$836 \pm 37^{*\wedge}$
Билирубин, мкмоль/л	$4,81 \pm 0,41$	$5,80 \pm 0,54$	$9,63 \pm 0,75^{*\wedge}$
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$11,32 \pm 0,61$	$8,60 \pm 0,39$	$8,12 \pm 0,40^*$
Лимфоциты, %	$66,5 \pm 5,5$	$61,6 \pm 4,9$	$47,2 \pm 4,4^{*\wedge}$
Гранулоциты, %	$29,5 \pm 3,3$	$19,3 \pm 5,4$	$17,7 \pm 2,3^*$
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	$7,18 \pm 0,27$	$5,38 \pm 0,51^*$	$4,36 \pm 0,21^{*\wedge}$
Гемоглобин, г/л	142 ± 3	$123 \pm 5^*$	$119 \pm 3^*$
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	787 ± 99	$482 \pm 54^*$	$403 \pm 15^*$

* – $p < 0,05$ по отношению к группе №1 (контроль №1); $\wedge$ – $p < 0,05$ – различия, связанные с уровнем дозирования

Введение иматиниба (таблица 3) в дозе 1 ТД вызвало невыраженное, но носившее значимый характер, повышение активности АЛТ. Изменения в других показателях гепатотоксичности, при этом, отсутствовали. Гематотоксичность 1 ТД иматиниба характеризовалась лейкопенией без существенного изменения лейкоцитарной формулы, анемией и тромбоцитопенией. При повышении уровня дозирования до 10 ТД имело место не только повышенное значение уровня АЛТ, но и АСТ. Активность ЩФ и содержание билирубина, креатинина и мочевины изменены не были при применении препарата в обеих

дозах. Степень лейкопении (в основном за счет лимфопении) и анемии не носили дозозависимого характера, в отличие от тромбоцитопении, степень выраженности которой (снижение на 33% при введении 1 ТД препарата и снижение на 51% при введении 10 ТД препарата) была аналогична таковой при введении циклофосфида и метотрексата.

Что касается препарата гефитиниб, то значимое токсическое воздействие на печень и систему крови было отмечено только при применении препарата в дозе 10 ТД и носило хоть и достоверный, но невыраженный характер.

Таблица 3.

Токсический профиль препарата иматиниб

Показатели (Mean±SD)	Экспериментальные группы		
	Группа № 6 (контроль № 2) n=10	Иматиниб, 1 ТД n=10	Иматиниб, 10 ТД n=10
АЛТ, Е/л	26,5±1,7	34,1±3,9*	38,4±6,9*
АСТ, Е/л	81,5±4,2	84,9±5,4	112,8±11,6*
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	10,58±0,10	8,51±0,19*	8,20±0,46*
Лимфоциты, %	62,0±2,2	52,8±7,4	49,8±3,0*
Эритроциты, 10 ¹² /л	6,98±0,14	4,96±0,25*	4,55±0,18*
Гемоглобин, г/л	146±6	115±3*	110±5*
Тромбоциты, %	775±19	523±29*	377±25*^

* – $p < 0,05$ по отношению к группе №6 (контроль №2); ^ – $p < 0,05$ – различия, связанные с уровнем дозирования

Таблица 4.

Токсический профиль препарата гефитиниб

Показатели (Mean±SD)	Экспериментальные группы		
	Группа № 6 (контроль № 2) n=10	Гефитиниб, 1 ТД n=10	Гефитиниб, 10 ТД n=10
АЛТ, Е/л	26,5±1,7	27,5±2,3	32,4±1,6*
АСТ, Е/л	81,5±4,2	88,6±7,1	94,0±5,5*
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	10,58±0,10	10,94±0,25	8,75±0,41*
Тромбоциты, %	675±19	595±33	561±20*

* – $p < 0,05$ по отношению к группе №6 (контроль №2); ^ – $p < 0,05$ – различия, связанные с уровнем дозирования

Обсуждение. Как и следовало ожидать, циклофосфамид и метотрексат вызвали наиболее широкий спектр побочных эффектов, отмеченных уже при введении в дозе, равной одной терапевтической, и носивших, как правило, дозозависимый характер. Развитие побочных эффектов любых лекарственных средств, чаще всего, обусловлено механизмом их специфического действия. Так, в основе противоопухолевого действия циклофосфамида лежит реакция алкилирования макромолекулы (ДНК, РНК), что приводит к образованию поперечных сшивок и разрывов ДНК, нарушению процессов репликации и гибели раковых клеток [16, 17]. Однако цитостатик вызывает повреждение не только опухолевых клеток, но и нормальных быстро пролиферирующих клеток организма, что ведет к запуску процессов чрезмерного свободно-радикального окисления и клеточной гибели, таких как индуцированный апоптоз, ферроптоз, некроз [18, 19]. В основе терапевтического эффекта метотрексата при злокачественных заболеваниях лежит способность конкурентно ингибировать активность фолат-зависимых ферментов и синтез пурина и пиримидина, необходимых для репликации ДНК и РНК в быстро делящихся злокачественных клетках [20]. Механизм токсического действия на нормальные клетки до сих пор точно неизвестен и прямая связь между дефицитом фолиевой кислоты и выявляемыми побочными эффектами не установлена. Однако ряд исследований демонстрирует, что, например, гепатотоксичность метотрексата может быть результатом окислительного стресса, так как антиоксиданты ограничивают апоптоз гепатоцитов, способствуют сохранению структуры печеночных клеток, поддерживают активность каталазы, супероксиддисмутазы и уровень восстановленного глутатиона в органе [21, 22]. Таким образом, и в случае алкилирующего агента и антиметаболита в развитии побочного токсического действия, по-видимому, лежит изменение клеточного «редокс-статуса».

«Таргетные» препараты, использованные в настоящей работе, представлены малыми синтетическими молекулами, проникающими через клеточную мембрану и взаимодействующие с мишенями внутри клетки. Иматиниб является препаратом первого поколения ингибиторов тирозинкиназы Bcr-Abl и способен ингибировать тирозинкиназы ряда рецепторов, в том числе рецептора PDGF – тромбоцитарного фактора роста [23], что ведет к подавлению активности ITAM (иммунорецепторный тирозиновый активационный мотив) тромбоцитов [24]. Гефитиниб – ингибитор тирозинкиназы EGFR (рецептор эпидермального фактора роста), играющего ключевую роль в регуляции процессов

клеточного деления и апоптоза, он избирательно связывается с мишенью и не обладает значительным ингибирующим действием на тирозинкиназы других рецепторов, в отличие от иматиниба [25].

Хотя «таргетные» препараты считаются высокоселективными по отношению к опухолевым клеткам, мишени их терапевтического действия находятся и в нормальных клетках, а токсичность объясняется тем, что они воздействуют не только на тирозинкиназы, регулирующие процессы жизнедеятельности опухолевых клеток, но и на тирозинкиназы здоровых клеток. При этом изменение реактивности тирозинкиназных рецепторов может привести к нарушению клеточного цикла в нормальных клетках и развитию «нецелевых» эффектов, что определяет необходимость учитывать профиль токсичности применяемых в клинической практике ингибиторов тирозинкиназ [26, 27]. В экспериментах *in vitro* на различных линиях опухолевых клеток было показано, что иматиниб и гефитиниб вызывают их гибель путем апоптоза и аутофагии [28, 29], а также путем активации окислительного стресса, как и в случае циклофосфида и метотрексата [30].

Клинические проявления побочного действия препаратов с различным механизмом противоопухолевого действия, в целом, носили однонаправленный характер и различались лишь спектром и степенью выраженности выявленных эффектов и были следствием индуцированного апоптоза, аутофагии, некроза. Однако механизмы инициации клеточной гибели носили различный характер, что обуславливает необходимость своевременного воздействия на проапоптотические стимулы индивидуального генеза.

Таким образом, своевременное выявление осложнений новых препаратов «таргетной» противоопухолевой терапии и адекватная их коррекция имеют большое значение, оказывая влияние на эффективность лечения основного заболевания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гарин А.М., Базин И.С. Краткая история лекарственной терапии опухолей. Пока это третий метод лечения рака. *Эффективная фармакотерапия. Онкология, гематология и радиология*. 2013; 3: 8–13.
2. Давыдов М.И. *Рациональная фармакотерапия в онкологии* / под ред. М.И. Давыдова, В.А. Горбуновой. М.: Литтерра; 2017. URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785423502447.html> (дата обращения: 21.02.2023).
3. Falzone L., Salomone S., Libre M. Evolution of cancer pharmacological treatments at the turn of the third millennium. *Front. Pharmacol., Sec. Experimental Pharmacology and Drug Discovery*. 2018;9:1–26. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01300>.
4. Puyo S., Montaudon D., Pourquie P. From old alkylating agents to new minor groove binders. *Crit Rev OncolHematol*. 2014;89(1):43–61. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2013.07.006>.
5. Peters G.J., van der Wilt C.L., van Moorsel C.J. et al. Basis for effective combination cancer chemotherapy with antimetabolites. *PharmacolTher*. 2000;87(2–3):227–53. [https://doi.org/10.1016/s0163-7258\(00\)00086-3](https://doi.org/10.1016/s0163-7258(00)00086-3).
6. Сакаева Д.Д., Орлова Р.В., Шабаетова М.М. Практические рекомендации по лечению инфекционных осложнений фебрильной нейтропении и назначению колониестимулирующих факторов у онкологических больных. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO. 2018; 8 (3, спецвыпуск 2): 521–530.
7. Ткаченко П.Е., Ивашкин В.Т., Маевская М.В. Клинические рекомендации по коррекции гепатотоксичности, индуцированной противоопухолевой терапией. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO. 2018; 8 (3, спецвыпуск 2): 531–544.
8. Валиев Т.Т., Коркина Ю.С. Ифосфамид/циклофосфамид-индуцированная метгемоглобинемия при лечении гемобластозов у детей. *Современная онкология*. 2020; 22 (4): 139–142. <https://doi.org/10.26442/18151434.2020.4.200481>
9. Hojjat-Farsangi M. Small-molecule inhibitor the receptor tyrosinekinases: promise therapies. *Int. J. Mol Sci*. 2014;15(8):13768–801. <https://doi.org/10.3390/ijms150813768>.
10. Tsimberidou A.M. Targeted therapy in cancer. *Cancer ChemotherPharmacol*. 2015; 76:1113–1132. <https://doi.org/10.1007/s00280-015-2861-1>.
11. Ayoub N.M. Editorial: novel combination therapies for the treatment of solid cancers. *Front Oncol*. 2021;18;11:708943. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.708943>.

12. Tan A.C., Bagley S.J., Wen P.Y., et al. Systematic review of combinations of targeted or immunotherapy in advanced solid tumors. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 2021;9:e002459. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-002459>.

13. Zubair T., Bandyopadhyay D. Small molecule EGFR Inhibitors as anti-cancer agents: discovery, mechanisms of action, and opportunities. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24(3): 2651. <https://doi.org/10.3390/ijms24032651>.

14. Wu P., Clausen M.H., Nielsen T.E. Allosteric small-molecule kinase inhibitors. *Pharmacol Ther.* 2015;156:59–68. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.10.002>.

15. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К.; 2012.

16. Корман Д.Б. *Мишени и механизмы действия противоопухолевых препаратов*. Москва: Практическая медицина; 2014.

17. Emadi A., Jones R.J., Brodsky R.A. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nat Rev ClinOncol*. 2009; 6(11):638–47. <https://doi.org/10.1038/nrcclinonc.2009.146>.

18. Chakraborty P., Roy S.S., Basu A., Bhattacharya S. Sensitization of cancer cells to cyclophosphamide therapy by an organoselenium compound through ROS-mediated apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016; 84:1992–1999. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.11.006>.

19. Shi H., Hou B., Li H., et al. Cyclophosphamide induced thhhheferroptosis of tumor cells through heme oxygenase-1. *Front. Pharmacol.* 2022; 13. <https://doi.org/10.3389/fpharm.2022.839464>.

20. Tiwari M. Antimetabolites: established cancer therapy. *J. Cancer. Res. Ther.* 2012;8(4):510–519. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.106526>.

21. Фролов Б.А., Калинина О.В., Кириллова А.В., Штиль А.А. Преодоление гепатотоксичности метотрексата: роль тритерпеноидов. *Клиническая онкогематология*. 2013; 6(1):1–12.

22. Demirci T., Gedicli S., Ozturk N., Celep N.A. The protective effect of N-acetylcysteine against methotrexate-induced hepatotoxicity in rats. *EJMI*. 2019; 3 (3): 219–226. <https://doi.org/10.14744/edjmi.2019.42299>.

23. Rossari F., Minutolo F., Orciuolo E. Past, present, and future of BcrAbl inhibitors: from chemical development to clinical efficacy. *J. Hematol. Oncol.* 2018;11(1):84. <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0624-2>.

24. Loren C.P., Aslan J.E., Rigg R.A. et al. The BCR-ABL inhibitor ponatinib inhibits platelet immunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM) signaling, platelet activation and aggregate formation under shear. *ThrombRes.* 2015;135(1):155–160. <https://doi:10.1016/j.thromres.2014.11.009>.
25. Lemmon M.A., Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell.* 2010;141(7):1117–1134. <https://doi:10.1016/j.cell.2010.06.011>
26. Sudhesh Dev S., Zainal Abidin S.A., Farghadani R. et al. Receptor tyrosine kinases and their signaling pathways as therapeutic targets of curcumin in cancer. *Front. Pharmacol.* 2021;12:772510. <https://doi:10.3389/fphar.2021.772510>.
27. Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G. et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood.* 2013;122(6):872–884. <https://doi:10.1182/blood-2013-05-501569>.
28. Drullion C., Trégoat C., Lagarde V. et al. Apoptosis and autophagy have opposite roles on imatinib-induced K562 leukemia cell senescence. *Cell Death Dis.* 2012;3(8):e373. <https://doi:10.1038/cddis.2012.111>.
29. Zhao Z.Q., Yu Z.Y., Li J., Ouyang X.N. Gefitinib induces lung cancer cell autophagy and apoptosis via blockade of the PI3K/AKT/mTOR pathway. *Oncol Lett.* 2016;12(1):63–68. <https://doi:10.3892/ol.2016.4606>.
30. Gajski G., Gerić M., Domijan A-M. et al. Evaluation of oxidative stress responses in human circulating blood cells after imatinibmesylate treatment – Implications to its mechanism of action. *Saudi Pharm. J.* 2019;8:1216–1221. <https://doi:10.1016/j.jsps.2019.10.005>
-